

JP-A-3-229702
published on October 11, 1991

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑪ 公開特許公報(A) 平3-229702

⑫ Int. Cl.⁵ 識別記号 庁内整理番号 ⑬ 公開 平成3年(1991)10月11日
C 08 B 33/00 7624-4C
A 61 K 31/715 ADU 7431-4C
C 08 B 37/00 G 7624-4C
C 12 P 19/04 C 8214-4B
// (C 12 P 19/04
C 12 R 1:46) 8515-4B

審査請求 未請求 請求項の数 3 (全8頁)

⑭ 発明の名称 新規多糖類、その製法及びその多糖類を有効成分とする抗腫瘍剤

⑮ 特 願 平2-25813

⑯ 出 願 平2(1990)2月5日

⑰ 発 明 者 中 島 肇 埼玉県川越市霞が関東1丁目16-18 柴野ハイッ206号
⑱ 発 明 者 戸 羽 隆 宏 宮城県仙台市泉区将監9丁目1-4-304
⑲ 発 明 者 伊 藤 敏 敏 宮城県仙台市泉区将監2丁目20-7
⑳ 発 明 者 足 立 達 宮城県仙台市泉区南光台4丁目2-6
㉑ 発 明 者 豊 田 修 次 北海道札幌市東区本町二条3丁目3-23
㉒ 出 願 人 雪印乳業株式会社 北海道札幌市東区苗穂町6丁目1番1号
㉓ 代 理 人 弁理士 藤野 清也 外1名

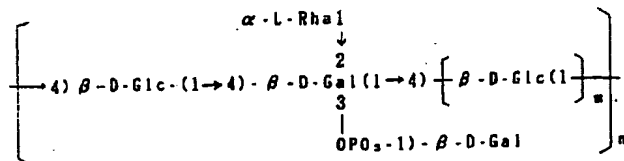
明 細 書

1. 発明の名称

新規多糖類、その製法及びその多糖類を有効成分とする抗腫瘍剤

2. 特許請求の範囲

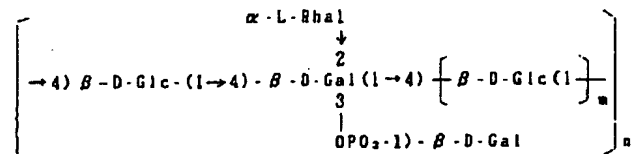
(1) 次の構造式で示される新規多糖類



(ただし、式中Glc はグルコース残基を、Gal はガラクトース残基を、Rha はラムノース残基をそれぞれ示す。また、式中の数値はそれぞれの結合部位を、m は0～3の整数を、n は繰り返し単位をそれぞれ示す。)

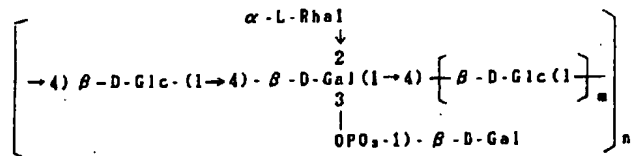
(2) 養膜性粘性物産生乳酸菌のストレプトコッカス・ラクチス(*Streptococcus lactis*)及び/またはストレプトコッカス・クレモリス(*Streptococcus cremoris*)を培養し、菌体及び/または培地から

次の構造式で示される新規多糖類を分離し、採取することを特徴とする新規多糖類の製造法



(ただし、式中Glc はグルコース残基を、Gal はガラクトース残基を、Rha はラムノース残基をそれぞれ示す。また、式中の数値はそれぞれの結合部位を、m は0～3の整数を、n は繰り返し単位をそれぞれ示す。)

(3) 次の構造式で示される新規多糖類を有効成分とする抗腫瘍剤



(ただし、式中Glc はグルコース残基を、Gal はガラクトース残基を、Rha はラムノース残基をそれぞれ示す。)

れぞれ示す。また、式中の数値はそれぞれの結合部位を、 m は0～3の整数を、 n は繰り返し単位をそれぞれ示す。)

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、新規な構造を有する多糖類、その製造方法及びその多糖類を有効成分とする抗腫瘍剤に関する。

(従来の技術)

ストレプトコッカス菌は通性嫌気性、グラム陽性の球菌であり、酪農用乳酸菌としてチーズや発酵乳のスターターに広く用いられている。

これまで、乳酸菌やそれをスターターとして使用した発酵乳がガン細胞増殖抑制効果があることについては多くの報告がなされている。

例えば、乳酸菌にガン細胞増殖抑制効果のあることは、ブルガリアのBogdanovによりはじめて報告され(Bogdanov I. G. et al. *FFBS Lett.*, 57, 259-261(1975))、ラクトバチルス・ブルガリク

ス(*L. bulgaricus*)細胞壁のグルコペプチドが、作用物質として単離された。

その後、米国のShahaniらは、スイスマウス(Swiss mice)にヨーグルトを経口投与してエールリッヒ(Ehrlich)腹水ガン細胞増殖への影響を検討している。また、ラクトバチルス・アシドフィルス(*L. acidophilus*)やラクトバチルス・ブルガリクス(*L. bulgaricus*)、ラクトバチルス・ブルガリクスとストレプトコッカス・テルモフィルス(*Str. thermophilus*)を併用して発酵したウシ初乳でも16～40%のガン細胞増殖抑制効果を認めている(Shahani K. M. et al. *J. Food Prot.*, 46, (5), 385-386(1983))。

Takanoらはラクトバチルス・ヘルベチクス・サブスピーシー・ユーグルティ(*L. helveticus subsp. jugurti*)とカンディダ・ユチリス(*Candida utilis*)をスターターとしてつくった酸乳をラットに与え、大腸ガンの発生数を検討した。その結果、26週後、酸乳を与えた群では対照群に比べ、大腸腫瘍の発

生数が有意に少なかった(Takano T. et al. *Bifidobacteria Microflora*, 4, (1), 31-37(1985))。

Shackelfordらはラクトバチルス・デルブルッキ・サブスピーシー・ブルガリクス(*L. delbrueckii subsp. bulgaricus*)あるいはストレプトコッカス・サリバリウス・サブスピーシー・テルモフィルス(*Str. salivarius subsp. thermophilus*)でつくった発酵乳の効果を検討している。そして、発酵乳を与えた群では実験中の死亡率が少なく、また、ストレプトコッカス・テルモフィルスでつくった発酵乳では、悪性腫瘍の発生が少なかったという報告がなされている(Shackelford L. A. et al. *Nutrition and Cancer*, 5, (3/4), 159-164(1983))。Esserらも、腹腔内にP-338細胞を移植したマウスにラクトバチルス・ブルガリクスを用いて乳で培養した上清をイオン交換して得た画分を腹腔内に投与して、延命効果のあることを認めている(Esser P. et al. *Milchwissenschaft*, 38, (5)257-260(1983))。

荒井らは、ラクトバチルス・ヘルベチクス・サブスピーシー・ユーグルティを含むスターターでつくった殺菌酸乳をICRマウスに経口投与してエールリッヒ(Ehrlich)腹水ガン細胞の増殖への影響を検討して42%の増殖抑制を認めた(荒井孝一郎ら、腸内フローラと発癌；学会出版センター、pp105-123(1981))。

また、馬田らは、マウスのSarcoma-180固形腫瘍を用いて、14種28株のラクトバチルス(*Lactobacillus*)の中から抗腫瘍活性の高い菌株をスクリーニングしている(馬田三夫、*Jap. J. Dairy & Food Sci.*, 30, (6), 205-217(1981))。

Katoらは、こうして選抜されたラクトバチルス・カゼイ(*Lactobacillus casei* YIT 9018)(LC 9018)が同種(Sarcoma-180)および同系腫瘍(L 1210 LeukemiaおよびMCA K-1 tumor)に対して高い抗腫瘍活性を有することを見出した(Kato L. et al. *Cancer*, 72, (1) 417-523(1981))。

腸内乳酸菌であるビフィドバクテリウム(*Bifido*

bacterium)でも抗腫瘍効果が認められている。
Kohwi らは、Meth-A細胞を皮下や腹腔内に移植したマウスにバチルス・インファンテス(*Bacillus infantis*)の菌体を腫瘍移植部位に投与して、腫瘍の退縮や抑制を認めた〔Kohwi Y. et al. *Bifidobacteria Microflora*, 1, (1), 61~68(1982)〕。

さらに、乳酸菌の産生する多糖類についての抗腫瘍効果についても報告されている。神辺、小田らは *Sarcoma-180*、*Ehrlich*(腹腔内)、*MC(solid)*を移植したマウスに、*L. helveticus var. jugurti*の産生する多糖類を腹腔内に投与して、延命効果が認められることを報告している〔神辺道雄、*Jap. J. Dairy & Food Sci.*, 30, (6), 219~225 (1981)〕〔Oda M. et al. *Agri. Biol. Chem.*, 47, (7), 1623~1625(1983)〕。

Shiomi らは、*Sarcoma-180*、*Ehrlich*を移植したマウスにケフィール粒から抽出した多糖を経口投与することにより、腫瘍細胞の増殖を抑制した

この得られた多糖類を構造解析したところ、従来の乳酸菌が産生する多糖類とは明らかに相違する新規な多糖類であることが判明した。さらに、この化合物の生理活性について検討したところ、抗腫瘍活性を有することを見出して本発明をなすに至った。

従って、本発明の課題は、新規多糖類、乳酸菌産生乳酸球菌のストレプトコッカス・ラクチス及び/またはストレプトコッカス・クレモリスから新規多糖類を製造する方法及びこの新規多糖類を有効成分とする抗腫瘍剤を提供することにある。

(課題を解決するための手段)

本発明は、上述したように、まず新規多糖類及びその製造法にある。

本発明の新規多糖類は、例えば、粘質発酵乳ヴィリーから乳酸性粘質物産生乳酸菌であるストレプトコッカス・ラクチス及び/またはストレプトコッカス・クレモリスを分離し、これを培養し、この菌体及び/または培地から得ることができる。

としている〔Shiomi M. et al. *Jap. J. Med. Sci. Biol.*, 35, (2) 75~80(1982)〕。

一方、スカンジナビアにはロングフィル(Långfil)、ヴィリー(Villie)、ピーマ(Piima)、テッテ(Tætte)などの伝統的な粘質発酵乳があり、それらの製造には、スターターとして乳酸産生乳酸球菌を用いるのが特徴である。

この粘質発酵乳のうちロングフィルから単離されたラクトコッカス・ラクチス・サブスペーシーズ・ラクチス及びラクトコッカス・ラクチス・サブスペーシーズ・クレモリスの菌体自体やそれらの培養物に抗腫瘍活性があることが報告されている〔特開平1-277484〕。

(発明が解決しようとする課題)

本発明者らは、スカンジナビアの伝統的な粘質発酵乳であるヴィリーから乳酸産生乳酸球菌のストレプトコッカス・ラクチス及びストレプトコッカス・クレモリスを単離し、その産生する多糖類について着目し、分離、精製を行った。そして、

以下に本発明の新規な多糖類の生産について述べる。

本発明において用いる乳酸性粘質物産生乳酸菌は、粘質発酵乳ヴィリーからホエートリブチケースペプトン寒天培地を用いて分離した菌株を培養し、得られる培養液から沈澱させて得ることができる。

上記粘質発酵乳ヴィリーからの菌株の分離および同定は、下記手順に従って行った。

(1) 乳酸性粘質物産生乳酸菌の分離
(培地)

20%還元脱脂乳(W/V)を透析膜(36/32)で透析後、透析外液にトリブチケースペプトン(BBL)を1%(W/V)添加し、さらに寒天(Oxoid, Agar Bacteriological, Agar No 1)を1%(W/V)添加し、pHを6.8に調整し、培地(ホエートリブチケースペプトン寒天培地)とした。本培地を115℃、15分間高圧滅菌後、シャーレに注ぎ平板を作成した。(分離法)

10%還元脱脂乳中で活性化させたヴィリー・スターター1gを光岡の方法によって得られた希釈液を用いて順次希釈して 10^{-4} および 10^{-7} の希釈液を調製し、これらの希釈液をシャーレ1枚当り0.1ccずつ塗抹した。シャーレは20および30℃で3～6日間嫌気培養(ガスバック、88L)した。生じたコロニーのうち粘性を有するものを採取し、墨汁染色法により莢膜菌であることを確認した。莢膜性粘質物産生菌は、ホエートリブチケースペプトン寒天培地に順次塗抹鈎菌し、純粋株とした。分離された莢膜性粘質物産生菌は10%還元脱脂乳に十分分散させ、急速凍結後、-80℃の冷凍庫に保存した。

(2) 莢膜性粘質物産生乳酸菌の同定

試験は全て2回、くり返し行った。分離菌の培養は分離した温度で行った。

(染色方法)

M17培地で20および30℃で72時間培養した菌体を用いHuckerの変法によるグラム染色を行った。

後、ネスラー試薬を添加してアムモニアの検出を行った。

(耐塩性試験)

M17培地に2.4および6.5%(W/V)のNaClを加え、20および30℃で72時間培養後、培養液の濁度を520nmで測定し、さらにpHを測定することで生育の有無を判定した。

(生成乳酸の旋光性)

M17培地で菌を20および30℃で72時間培養後、培地中のD-およびL-乳酸量をF-キットL-乳酸(製品番号139084、ベーリンガー・マンハイム、山之内)およびD(-)-乳酸脱水素酵素(製品番号106941、ベーリンガー・マンハイム、山之内)を用いて定量した。

(pH9.2での生育試験)

M17培地で20および30℃で48時間培養した。

(クエン酸からのガスの発生)

Semi-solid Citrate Milk Agarを用いて20および30℃で72時間培養し寒天中の亀裂の有無でガス

(カタラーゼ活性)

スライドグラスに3%過酸化水素水を添える。これにM17培地で20および30℃で72時間培養した菌を一白金耳加え、よく混合し、気泡の有無により判定した。

(運動性および酸素要求性)

Harriganらの方法によりYeast Glucose Lemco Agarを用いて20および30℃で72時間培養後、菌の広がりの有無および菌の生育の有無を観察し、運動性および酸素要求性を調べた。

(グルコースからのガスの発生)

Gibson's Semi-Solid Tomato Juice Mediumを用いて20および30℃で7日間培養後培地に生じる亀裂の有無により判定した。

(生育温度)

10、39.5および45℃で1～7日間培養し菌の生育を観察した。

(アルギニンからのアムモニアの産生)

M17培地を用い菌を20および30℃で72時間培養

の産生を判定した。

培養終了後、ホエートリブチケースペプトン寒天培地上に生じたコロニーのうち粘性を示すものを白金耳で拾った。ヴィリーの20および30℃培養寒天培地から菌株を採り、それぞれSBT 1209、SBT 0495と記号を与えた。墨汁染色の結果、全て莢膜性粘質物産生菌であることが判明した。

上記の分離菌は過性嫌気性、グラム陽性で無芽胞の運動性のない連鎖球菌でカタラーゼ活性はなかったことから、ストレプトコッカス属に分類された。さらに、グルコースからの炭酸ガスの産生もないことから、Homo型乳酸菌であり、生育温度をみると、10℃では両株とも生育し、45℃では生育せず、39.5℃ではSBT 0495は生育しなかった。耐塩性を見ると、2%NaClでは両株とも生育したが、4%NaClではSBT 1209のみ生育した。6.5%NaClでは何れも生育しなかった。アルギニンからのアムモニアの産生およびpH9.2における生育はSBT 1209で認められた。

以上の結果からSBT 1209はストレプトコッカス・ラクチス(*Streptococcus lactis*)、SBT 0495はストレプトコッカス・クレモリス(*Streptococcus cremoris*)と同定した。

以上の結果を表1に示した。

表 1

生 化 的 性 状	莢膜性粘質物産生菌株	
	SBT 1209	SBT 0495
10℃での生育	+	+
39.5℃での生育	+	-
45℃での生育	-	-
2%NaClでの生育	+	+
4%NaClでの生育	+	-
6.5%NaClでの生育	-	-
アルギニンの加水分解	+	-*
クエン酸塩からのCO ₂	-**	-
pH9.2での生育	+	-
生成した乳酸の型	L(+)	L(+)
グルコースからのCO ₂	-	-
運 動 性	-	-
粘質性菌株の同定	ストレプトコッカス・ラクチス	ストレプトコッカス・クレモリス

*アルギニンからアムモニアを生産しない。
**クエン酸からガスを生産しない。

なお、上記微生物は下記受託番号により寄託されている。

菌 株	受託番号
ストレプトコッカス・クレモリス SBT 0495 (<i>Streptococcus cremoris</i>)	微工研菌寄 第10053号
ストレプトコッカス・ラクチス SBT 1209 (<i>Streptococcus lactis</i>)	微工研菌寄 第8308号

本発明では、上記の寄託菌に限らず、北欧の粘質醗酵乳ロングフィル、ヴィリー、ピーマ、テッテから分離される莢膜性粘質物生産性のストレプトコッカス・クレモリス及びストレプトコッカス・ラクチスであれば、いずれの分離株でも用いることが出来る。

次にこのようにして得られた莢膜性粘質物産生乳酸菌の培養法及び多糖類の分離法を記す。

ストレプトコッカス・クレモリス SBT 0495株及びストレプトコッカス・ラクチス SBT 1209株の培養基は、乳成分を含む培地、これを含まない合成・半合成培地等、菌の増殖が良好で、多糖類の生産が良好な培地であれば、何れの組成のものを用いてもよい。培養法は、静置培養またはpHを一定に

コントロールした中和培養で行い、通常、18℃、24時間培養を行うが、多糖類が生産される条件であれば、どのような培養方法及び条件でも構わない。

培養物を遠心分離して、菌体を除き、粘稠性を有する上清液を得る。この上清液に等量のアルコールを添加して沈澱物を得る。この沈澱物は、必要に応じてアルコール沈澱を繰り返して、純度を高めることが出来る。また、高度に精製した試料を必要とする場合には、SDS-PAGE法、セバグ等適当な除蛋白操作を行う。このようにして調製した試料を凍結乾燥して、無臭の精製多糖類を得る。

以上の様にして製造された多糖類は、次のような理化学的性状を有している。この理化学的性状は、実施例2によって製造した多糖類のものである。

(1) 分子量

アサヒバック GS-710 を用いたゲルパーミエーション・クロマトグラフィーによって得られた分子量分布を、第1図に示した。第1図の中に示す

ブルラン (スタンダードブルランキット・P-82) を標準多糖類とする校正曲線と比較して分子量を決定したところ、約 170 万であった。

(2) 化学的性状

フェノール硫酸反応、および、アンスロン硫酸反応、 α -ナフトール硫酸法、システイン硫酸法を行ったところ糖の呈色反応を示した。また、フィスケ・サバロウ法によりリンの呈色反応を示した。ローリーフォリン法、BCA法による蛋白質の呈色反応は示さない。また、カルバゾール・硫酸法によるウロン酸、3-メチル-2-ベンゾチアゾロン・ヒドラゾン・ヒドロクロライド法によるヘキササミン、レゾルシノール・硫酸法によるシアル酸の呈色反応を示さない。

(3) 元素分析の結果は以下のとおりである。

炭素(C): 34.5 %

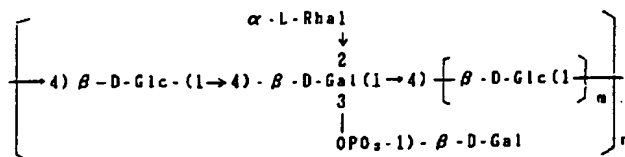
水素(H): 6.0 %

窒素(N): 0.5 % 以下

リン(P): 3.1 %

n は繰り返し単位をそれぞれ示す。)

以上の結果を総合して、本発明の多糖類は、以下の構造を持つ新規多糖類であると判断した。



(式中の数字は結合部位を、m は 0 ~ 3 の整数を、n は繰り返し単位をそれぞれ示す)

次に、本発明は、上記新規多糖類を有効成分とする抗腫瘍剤に関する。

本発明における有効成分として用いる多糖類は、その精製物であってもよく、またその粗製物、例えば前記したアルコール沈澱物であってもよい。

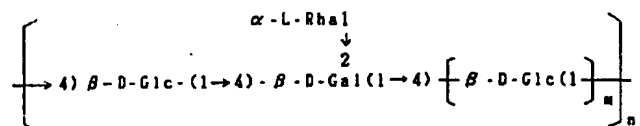
上記の理化学的性状を持つ多糖類を抗腫瘍剤として用いるには、そのままの粉末状態、または、適当な粉末状倍散剤、賦活剤、結着剤と混合し、各種の投与ルートで投与され、用いられる。

例えば、粉末状態のままあるいはこれに乳糖等

(4) 構成糖および化学構造

多糖類を2N塩酸に溶解し、100℃、6時間加水分解し、TMS化またはアルジトール・アセチル化し、ガスクロマトグラフィーで分析した。その結果、多糖類の構成糖は、ガラクトース (Gal)、グルコース (Glc)、ラムノース (Rha) であった。

さらに多糖類をフッ化水素酸で0℃、2日間加水分解し、分解物をトーヨーパールHW-55Sによるゲル濾過クロマトグラフィーに供したところ第2図に示した溶出パターンであった。このうちピーク2は無糖のリンであり、ピーク3はガラクトースであった。また、ピーク1をメチル化法、n.m.r.法で構造を解析したところ、以下の構造であった。



(式中の数字は結合部位を、n は 0 ~ 3 の整数を、

の賦形剤を加えて粉剤、錠剤、丸剤、カプセル剤、顆粒剤として経口投与することができる。また、蒸留水、生理食塩水等に溶解して静注、筋注等の注射剤として用いることもできるし、また慣用の手段で坐剤にして用いてもよい。

投与量は、投与対象者の症状、年齢等を考慮してそれぞれ個別に通宜決定されるが、通常成人1日当り0.5 ~ 5.0 gであり、これを1日数回に分けて投与するとよい。

次に試験例を示して、本発明の抗腫瘍活性について述べる。

(試験1) エタノール沈澱成分の抗腫瘍試験

牛乳ホエーの限外濾過通過液を主成分とするバーミエト培地でSBT 1209株を培養し、実施例2の方法によって得られたエタノール沈澱成分について、抗腫瘍剤活性を検討した。

抗腫瘍剤活性の試験は以下の方法で行った。

Sarcoma-180 腫瘍細胞 3×10^4 個をマウスの腹下部皮下に移植する。翌日よりPBS に溶解した上

記エタノール沈澱面分を1日1回、連続10日間腹腔内投与した。投与量は1mg/kg及び5mg/kgとした。対照群には、PBSのみを投与し、移植後21日目に腫瘍を摘出、その湿重量を測定し、以下の式で平均腫瘍抑制率を求めた。

$$\text{腫瘍抑制率(\%)} = (1 - \text{試験群の平均腫瘍重量} / \text{対照群の平均腫瘍重量}) \times 100$$

また、試験期間中にマウスの状態を観察した。得られた結果を第1表に示す。

第 1 表

試験群	マウスの数	腫瘍重量	抑制率(%)
対照群	8	1.16±1.10	
1 mg/kg	8	0.43±0.38	63
5 mg/kg	8	0.57±0.56	51

本表から明らかなように、SBT 1209株培養上清中のエタノール沈澱面分には、51～63%の強い抗腫瘍活性が認められた。

また、実施例1において得られるSBT 0495株の

亡は認められず、急性毒性はみとめられなかった。

以下に実施例を示す。しかし、本発明はこの実施例の記載に限定されるものではない。

実施例1

アクチナーゼEで完全加水分解した脱脂乳を限外濾過(旭化成・SEP-1013)し、そのリンデット液を培地とした。この培地を用い、10ℓ容ジャーファーメンターに滅菌した培地9.8ℓを無菌的に分注した。SBT 0495株の前培養液を5%接種後、培地のpHを5.5に保ちつつ(アンモニア水を中和剤として用いる)、20℃、24時間培養した。培養物を遠心分離し、上清液を得た。この上清液に等量のエタノールを添加し、沈澱物を回収、さらにこれを0.2N食塩水に溶解してエタノール沈澱を繰り返した。さらにこの沈澱物をSDS化し、SDSゲル電気泳動に供し、ゲル内に浸透しない部分を回収した。回収した面分を透析した後、DEAE-トローパール650Mを用いたイオン交換クロマトグラフィーを行い吸着部分として精製多糖類を得た。

培養物のエタノール沈澱面分について同様の試験を行ったところ、ほぼ同じ抗腫瘍活性が認められた。

(試験例2) 精製多糖類面分の抗腫瘍試験

(試験例1)と同様の方法に従い、SBT 0495株を用い、実施例1に示した方法で調製した精製多糖類を投与した時の抗腫瘍効果の結果を第2表に示す。

第 2 表

試験群	マウスの数	腫瘍重量	抑制率(%)
対照群	16	2.22±1.24	
1 mg/kg	11	1.40±0.87	37
10 mg/kg	11	1.44±1.05	35

以上に示したように、SBT 0495株及び/またはSBT 1209株の培養上清中から得られるエタノール沈澱面分、あるいは、これから得られる精製多糖類には、明らかな抗腫瘍効果が認められた。また、何れの試験においても、実験期間中にマウスの死

得られた試料を凍結乾燥したところ、粉状の精製多糖類は700mgであった。

実施例2

SBT 1209株を用いたことを除き、実施例1と同様の方法で多糖類を精製し、550mgを得た。

実施例3

実施例1または実施例2で得られた精製多糖類10gを精製蒸留水1ℓに溶解し、これを10mlのアンプルにつめて殺菌を行って静注用注射剤を得た。

実施例4

実施例1または実施例2で得られた精製多糖類1gを乳糖5gと混合し、顆粒状に成型して顆粒剤を得た。

(発明の効果)

本発明は、新規な多糖類及びその製造法を提供するものである。

さらに、本発明は、新規な抗腫瘍剤を提供するものであり、本発明の抗腫瘍剤は、毒性及び副作用がきわめて少く、抗腫瘍活性がすぐれている点

で有用である。

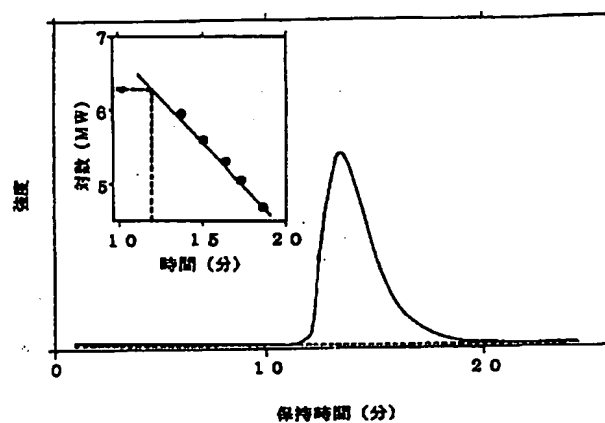
4. 図面の簡単な説明

第1図は、本発明の多糖類のゲルパルメーションクロマトグラフィーによる溶出曲線を示す。

また、第1図中に示される図は、標準に用いたプルランの校正曲線を示す。

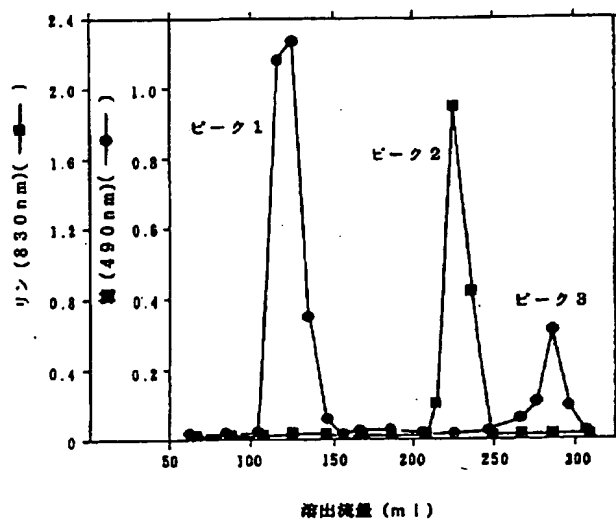
第2図は、本発明の多糖類のフッ化水素酸分解物のゲル濾過による溶出曲線を示す。

—●— は、糖の溶出曲線を、—■— はリンの溶出曲線をそれぞれ示す。



第1図

出願人 雷印乳業株式会社
代理人 藤野 清也
代理人 宮田 広 登



第2図